

Navodila za uporabo – mikromrežni test BluePrint FFPE

Uvod

Test BluePrint je test za določanje molekularnega podtipa, ki razvrsti raka dojk na tri različne podtipe, luminalni tip, tip HER2 in bazalni tip, na podlagi dejanskega biološkega profila tumorja z uporabo izražanja genov. Določitev molekularnega podtipa omogoča optimalnejšo izbiro zdravljenja, saj imajo lahko tumorji, ki se na podlagi histopatoloških značilnosti morda zdijo enaki, v resnici zelo različne klinične izide. ^(1,2,3)

Z uporabo 200 prvotnih vzorcev bolnic z rakom dojk in štirih ločenih kohort za potrditev (n = 748) so določili profil 80 genov za test BluePrint. ⁽¹⁾ Test BluePrint razlikuje med tremi intrinzičnimi podtipi raka dojk: luminalnim tipom, tipom HER2 in bazalnim tipom. Te intrinzične podskupine lahko z uporabo testov za ugotavljanje izražanja genov določimo natančneje kot s standardno oceno z imunohistokemijo (IHC) oziroma fluorescenčno hibridizacijo in situ (FISH). ^(2,4)

S testom BluePrint analiziramo profil izražanja 80 specifičnih genov v vzorcu tkiva z analizo izolirane RNA iz vzorcev tumorskega tkiva na posebnih steklenih mikromrežnih ploščicah. Z uporabo lastniškega algoritma test BluePrint določi indeks korelacije profila 80 genov z vsakim od treh različnih osrednjih molekularnih tipov: luminalnim tipom, tipom HER2 in bazalnim tipom.

Predvidena uporaba

BluePrint FFPE je kvalitativen, neavtomatiziran diagnostični test in vitro, ki ga izvajamo v diagnostičnem laboratoriju podjetja Agendia z uporabo profila izražanja genov, pridobljenega iz vzorcev rakavega tkiva dojk, fiksiranih v formalinu in vklopljenih v parafin (FFPE), za določitev molekularnega podtipa.

Test se izvaja pri bolnicah z rakom dojk v 1., 2. ali 3. stadiju.

Predvideni uporabnik

Testiranje z mikromrežnim testom BluePrint FFPE lahko naroči lečeči zdravnik bolnice z rakom dojk. Z naročilom testiranja z mikromrežnim testom BluePrint FFPE zdravnik zaprosi podjetje Agendia, da v svojem diagnostičnem laboratoriju testira vzorec.

Princip delovanja testa

Analiza temelji na več neavtomatiziranih postopkih, ki so naslednji: izolacija RNA iz rezin rakavega tkiva dojk FFPE, reverzna transkripcija RNA, pri kateri nastane cDNA, amplifikacija in označevanje cDNA, hibridizacija amplificirane in označene cDNA na diagnostično mikromrežo, izpiranje in branje diagnostične mikromreže ter zajem podatkov (ekstrakcija lastnosti), izračun in določitev molekularnega podtipa (BluePrint).

Analiza BluePrint je namenjena ugotavljanju aktivnosti specifičnih genov v vzorcu tkiva. Rezultat je profil izražanja oziroma »prstni odtis« vzorca. Izračuna se korelacija profila izražanja s predlogami (povprečnimi ravnmi izražanja mRNA pri tumorjih luminalnega tipa, bazalnega tipa in tipa HER2) (indeks BluePrint) ter določi molekularni podtip vzorca (t. bazalni tip, luminalni tip ali tip HER2).

Opozorila in previdnostni ukrepi

Identifikacijski podatki bolnice na obrazcu za naročilo se morajo natančno ujemati z identifikacijskimi podatki vzorca v sistemu LIMS, ki ustvari interni identifikator, ki se mora natančno ujemati z vzorcem, ki se obdeluje v laboratoriju.

Obrazec za naročilo testiranja izpolnite s pravilnimi podatki.

Vzorec, izbran za testiranje s testom BluePrint, se mora ujemati z značilnostmi populacije, za katero je predviden, kar med drugim vključuje raka dojke pri ženskah, zgodnji stadij in najmanj 30 % tumorskih celic.

Rezultate testa BluePrint lahko zdravniki uporabijo skupaj s standardnimi kliničnopatološkimi dejavniki. Test ni namenjen ugotavljanju izida bolezni niti napovedovanju ali predvidevanju odziva posamezne bolnice na zdravljenje.

Postopek a) Izbira pacienta

Bolnice so primerne, če so jim diagnosticirali raka dojke v 1., 2. ali 3. stadiju.

b) Odvzem, registracija in pošiljanje vzorca

Informacije o pogojih za odvzem vzorca, ravnanje z njim in njegovo pripravo so stranki na voljo v navodilih za uporabo: M-ROW067. Ta komplet vsebuje naslednje:

- 10 mikroskopskih stekelc,
- 2 nosilca za pet stekelc,
- majhno in veliko plastično vrečko na zadrgo,
- navodila za odvzem vzorca,
- obrazec za naročilo testiranja,
- list z nalepkami s črtno kodo,
- embalažo za pošiljanje.

Registracija vzorca se izvede po prejemu naročila zdravnika, ki je naročil testiranje. Naročilo (obrazec za naročilo testiranja) lahko odda prek spletnega portala za stranke ali po drugih komunikacijskih kanalih. Podjetje Agendia registrira vse povezane podatke o vzorcih in bolnicah. Zdravnik, ki je naročil testiranje, mora vzorec poslati neposredno v diagnostični laboratorij podjetja Agendia, in sicer pri temperaturi okolja in z uporabo priložene embalaže za pošiljanje po pošti.

c) Analiza vzorca v podjetju Agendia

Za vzorce tkiva FFPE se uporabijo stekelca z rezinami tkiva FFPE, ki jih posreduje stranka, ali pa pripravimo preparate iz bloka tumorskega tkiva FFPE, ki ga posreduje stranka, z uporabo standardnega mikrotoma. Iz tkivnih rezin z uporabo standardnega kompleta za izolacijo, ki je na voljo na trgu, ekstrahiramo celotno RNA. Vzorec RNA očistimo, amplificiramo in označimo s fluorescentnim barvilom cianin-CTP/dUTP.

Vzorec RNA/cDNA hibridiziramo na posebno diagnostično mikromrežo (8 kosov, Agilent Technologies).

S čitalnikom za mikromreže podjetja Agilent preberemo diagnostično mikromrežo in rezultate dobimo v datoteki z rezultati branja (TIFF). To datoteko uporabimo v programski opremi podjetja Agilent za ekstrakcijo lastnosti. Programska oprema za ekstrakcijo lastnosti analizira datoteko z rezultati branja (TIFF), pri čemer ugotavlja

relativne intenzivnosti fluorescence posameznih lastnosti glede na datoteko z zasnovano diagnostično mikromrežo, ki jo uporabi kot predlogo, da opredeli kontrolne lastnosti, lastnosti normaliziranja in lastnosti označevalnega gena. Intenzivnosti fluorescence lastnosti so merilo za izražanje določenih genov.

d) Analiza podatkov in poročanje

Podatki se analizirajo v skladu s posebnim algoritmom BluePrint, ki izračuna indekse BluePrint in določi molekularni podtip vzorca (bazalni tip, luminalni tip ali tip HER2).

Za zagotovitev pravih analitičnih rezultatov se uporabljajo številne kontrole kakovosti (> 25). Preverjanja kakovosti skupaj z rezultati interno beleži in potrjuje vodja laboratorija.

e) Poročanje

Zdravnik, ki je naročil testiranje, prejme izvid bolnice ter povzetek rezultatov za vsak naročeni mikromrežni test BluePrint FFPE. Glede osebnih podatkov bolnic si preberite naše pogoje obdelave podatkov v pravilniku o zasebnosti podjetja Agendia.

Omejitve postopka

Test BluePrint so potrdili le za uporabo z rakavim tkivom dojk žensk. Pri testiranju drugih vrst vzorcev lahko dobimo napačne rezultate ali pa rezultatov sploh ne dobimo. Zanesljivi rezultati so odvisni od odvzema zadostne količine vzorca in načina pošiljanja.

Test BluePrint so posebej potrdili za tumorje, ki so invazivni duktalni karcinomi ali lobularni karcinomi. Testiranja drugih vrst vzorcev (npr. bezgavk) niso ocenjevali.

Pričakovane vrednosti

Test BluePrint FFPE razvrsti vzorce rakavega tkiva dojk na tri različne podtipe: luminalnim tipom, tipom HER2 in bazalnim tipom. Podtip z najvišjo vrednostjo indeksa določi molekularni podtip tumorja.

Luminalni tip

Za luminalni tip raka dojk je značilno izražanje genov na luminalnih epiteljskih celicah, ki obdajajo mlečne vode in žleze.

Tip HER2

Za HER2-tip raka dojk je značilna amplifikacija oziroma prekomerno izražanje lokusa HER2.

Raki tipa HER2 so običajno HER2-pozitivni tumorji pri IHC oziroma FISH (HER2/neu-pozitivni). Če rezultat testa BluePrint pokaže, da gre za tip HER2, pomeni, da je fenotip tumorja najbolj podoben intrinzičnemu podtipu HER2.

Bazalni tip

Za bazalni tip raka dojk je značilno izražanje genov na celicah bazalnega/mioepiteljskega izvora. Raki bazalnega tipa so običajno trojno negativni na ER, PR in HER2 ter imajo specifičen profil izražanja genov.

Če rezultat testa BluePrint pokaže, da gre za bazalni tip, pomeni, da je fenotip tumorja najbolj podoben intrinzičnemu bazalnemu podtipu.

Lastnosti delovanja

Lastnosti delovanja testa BluePrint, ki so jih preučili, zajemajo: natančnost, ponovljivost, mejo zaznavanja in točnost.

Tehnično veljavnost testa BluePrint so ugotavljali v več posameznih preizkušanjih za potrditev testa in v obsežni študiji primerjave med laboratoriji. ⁽⁵⁾ Na podlagi analitične učinkovitosti testa BluePrint natančnost razvrščanja med luminalni tip, bazalni tip ali tip HER2 znaša 98,6 %, pri čemer je ponovljivost meritve 99,0 %. Za ponovljivost so ugotovili, da znaša 98,3 %.

Lastnosti delovanja temeljijo na študijah in člankih, navedenih spodaj.

Naročilo testiranja

Kontaktna oseba pri podjetju Agendia vam bo posredovala komplet za odvzem vzorca. Z uporabo kompleta vzorec tumorja nanosite na stekelca v skladu z navodili ali pa pripravite blok FFPE. Oddajte naročilo prek našega spletnega portala ali izpolnite obrazec za naročilo testiranja, ki je priložen kompletu za odvzem vzorca. Podrobnosti so v navodilih za uporabo tega kompleta.

Če potrebujete dodatno pomoč ali informacije, stopite v stik z nami prek Customerservice@agendia.com ali +31 (0)20 462 1510.

Seznam literature

1. Krijgsman et al. Breast Cancer Res Treat 2011; 133(1): 37–47
2. Glück et al. Breast Cancer Res Treat 2013; 139(3): 759–767
3. Whitworth et al. Ann Surg Oncol 2017; 24(3): 669–675
4. Beitsch et al. Ann Surg Oncol 2017; 24(9): 2539–2546
5. Mittempergher et al. Transl Oncol 2020; 13(4): 100756

Opozorilo:

O vseh morebitnih resnih zapletih, povezanih s testom BluePrint FFPE, poročajte proizvajalcu in pristojnemu organu države članice. Proizvajalec bo o resnem zapletu poročal pristojnemu organu države članice, v kateri se nahaja uporabnik oziroma bolnica.

Spremembe in dopolnila, namenjena izpopolnitvam v kliničnem laboratoriju (CLIA) Potrdila o akreditaciji:

Agendia, Inc.: 05D1089250

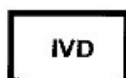
Podatki o proizvajalcu



Agendia NV
Radarweg 60
1043 NT Amsterdam, Nizozemska
Telefon: +31 (0)20 462 1510
E-pošta: customerservice@agendia.com

Naslov diagnostičnega laboratorija podjetja
Agendia Agendia, Inc.:
22 Morgan,
Irvine, CA 92618, ZDA
telefon: +1 888 321 2732
Faks: +1 866 756 7548
www.agendia.com

Osnovni UDI-DI: 0850024841BlueprintBB



© 2021 Agendia, NV. Vse pravice pridržane. Agendia, logotip Agendia in BluePrint so registrirane blagovne znamke podjetja Agendia, NV.

M-ROW-388-V1

Datum izdaje: 03Nov2022

Spremembe prejšnje različice

prva izdaja – xx-xxx-2021